


MODULATION CONTRAST MICROSCOPE

Patent number: DE2523463
Publication date: 1975-12-18
Inventor: HOFFMAN ROBERT
Applicant: HOFFMAN ROBERT
Classification:
- international: G02B21/00
- european: G02B21/14
Application number: DE19752523463 19750527
Priority number(s): US19740476518 19740605

Also published as:

 JP51128548 (A)
GB1509276 (A)
FR2274054 (A1)
DD124129 (A)
CH586911 (A5)

more >>

Abstract not available for DE2523463

Abstract of correspondent: **GB1509276**

1509276 Modulation-contrast microscope R HOFFMAN 14 April 1975 15266/75 Heading G2J To render phase objects visible in a microscope system, the image of a slit below the condenser position is formed at a Fourier transformation plane behind the objective and is there intercepted by a modulator having at least two different density regions providing an abrupt change in density between the regions. Preferably these regions are provided, one corresponding to the slit and the contrast of the visible image may be altered by angularly displacing a plane glass sheet above the slit. A modification to use reflected light is also disclosed. The modulator may have coloured regions so that the object is contrasted to a different coloured background.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

MODULATION CONTRAST MICROSCOPE

Patent Number: ☐ GB1509276

Publication date: 1978-05-04

Inventor(s):

Applicant(s): HOFFMAN R

Requested Patent: ☐ DE2523463

Application
Number: GB19750015266 19750414

Priority Number(s): US19740476518 19740605

IPC Classification: G02B21/06

EC Classification: G02B21/14

Equivalents:

CA1028878, ☐ CH586911, ☐ DD124129, ☐ FR2274054, ☐ IT1036796,
☐ JP51128548

Abstract

Data supplied from the esp@cenet database - I2

51

Int. Cl. 2:

G 02 B 21-00

19 BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES



PATENTAMT

DT 25 23 463 A1

11

Offenlegungsschrift 25 23 463

21

Aktenzeichen:

P 25 23 463.3

22

Anmeldetag:

27. 5. 75

43

Offenlegungstag:

18. 12. 75

30

Unionspriorität:

32 33 31

5. 6. 74 USA 476518

54

Bezeichnung:

Kontrastmodulationsmikroskop

71

Anmelder:

Hoffman, Robert, Merrick, N.Y. (V.St.A.)

74

Vertreter:

Glawe, R., Dr.-Ing.; Delfs, K., Dipl.-Ing.; Moll, W., Dipl.-Phys. Dr.rer. nat.;
Mengdehl, U., Dipl.-Chem. Dr.rer. nat.; Pat.-Anwälte,
8000 München u. 2000 Hamburg

72

Erfinder:

gleich Anmelder

DI 25 23 463 A1

Robert Hoffman

Kontrastmodulationsmikroskop

Die Erfindung betrifft ein neues Mikroskop, insbesondere ein Mikroskop, welches Phasengradienten in Phasenobjekten sichtbar macht, indem es auf Teile der Amplitude des Lichtes, welches durch die Fourier Ebene hindurchtritt, einwirkt und so die Phasengradienteninformation in Intensitätsschwankungen umwandelt.

Objekte, welche unter dem Mikroskop betrachtet werden, entweder durch hindurchgelassenes oder reflektiertes Licht, ergeben ein Bild, dadurch daß sie einen Teil des durch das Objekt hindurchgelassenen, bzw. des auf dem Objekt auftreffenden Lichtes absorbieren. Solche Objekte sind als Amplitudenobjekte bekannt. Aufgrund der besonderen Merkmale der Erfindung werden diese Amplitudenobjekte deutlicher sichtbar gemacht, d.h. mit größeren Details und zusätzlicher Information, die sonst nicht sichtbar würde. Andere Arten von Objekten, welche transparent oder nahezu transparent sind, können unter einem gewöhnlichen Mikroskop mit gewöhnlicher Beleuchtung nicht betrachtet werden und werden Phasenobjekte genannt. Diese Objekte verzögern oder beschleunigen die Phase der Lichtwelle, welche durch das Objekt hindurchtritt. Da das Auge für Intensität empfindlich ist und nicht für Phase, sind derartige Objekte unsichtbar. Es wurden Mikroskope entwickelt, welche dazu dienen sollen, Phasenänderungen in Amplituden oder Intensitäten umzuwandeln und so die Phaseninformation im Objekt sichtbar zu machen.

Bei bekannten Mikroskopen, welche Phaseninformation in Intensitätsunterschiede umwandeln, wie z.B. das Phasenmikroskop und das Interferenzmikroskop, geschieht dies mittels Interferenzeffekten, welche in der Bildebene zwischen zwei oder mehr Lichtwellen, welche gespalten oder auf irgendeine Weise im optischen Weg des Mikroskops getrennt wurden, hergestellt werden. Die Interferenz, welche zwischen den Lichtwellen, welche in der Phase unverändert hindurchtreten und jenen Lichtwellen, welche vom Objekt gebeugt wurden, auftritt, erzeugt Intensitätsschwankungen. Im Phasenkontrastmikroskop werden Phasenobjekte sichtbar gemacht durch die Interferenz, welche zwischen den durch das Objekt ohne Ablenkung hindurchtretenden Lichtstrahlen und den durch das Objekt abgelenkten Lichtstrahlen erzeugt wird. Der durch die Phasenplatte im Phasenmikroskop eingeführte Phasenunterschied ist ein Konstruktionsmerkmal, welches kleine Phasenmerkmale des Objektes sichtbar macht. Aufgrund der Art, in welcher die Phasenplatte beleuchtet und konstruiert ist, wird außerdem um beugende und brechende Merkmale des Objektes ein Lichthof erzeugt, welcher die Grenzen dieser Merkmale verdunkelt, wodurch das Phasenmikroskop für ein genaues Messen von Dimensionen ungeeignet ist. Das Interferenzmikroskop, sei es das voll duplizierende oder das Differenzmikroskop, erzeugt eine Interferenz in der Bildebene zwischen zwei Lichtstrahlen, u.zw. lediglich aufgrund ihrer Phasenunterschiede.

Durch die vorliegende Erfindung werden die Nachteile des Phasenkontrastmikroskops und des Interferenzmikroskops ausgeschaltet. Objekte werden leichter und unter Verwendung billigerer Bestandteile sichtbar gemacht. Eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum Betrachten mikroskopischer transparenter Objekte besteht aus einem Verbundmikroskop, in welchem eine Einrichtung zum Beleuchten des Objektes mittels eines gesteuerten Lichtstrahles vorgesehen ist. Eine weitere Einrichtung ist vorgesehen, welche die Amplitude von Teilen dieses Strahles, nachdem er durch das Objekt hindurchgetreten ist, selektiv moduliert. Die Strahlen treffen sich danach

wieder, um im Bild zu interferieren, worauf die Phasengradienten im Objekt sichtbar gemacht werden.

Ein Mittel zur Erzeugung eines gesteuerten Strahles zur Beleuchtung des Objektes besteht in einem Schlitz, welcher zwischen die Lichtquelle und den Kondensor in einer der Fourier Transformationsebene konjugierten Ebene nach dem Objektiv angeordnet ist. Sodann wird der Schlitz durch den Kondensor und das Objektiv des Mikroskops abgebildet, um nach dem Objektiv eine Fourier Transformationsebene zu schaffen. Ein Lichtmodulator mit neutraler Densität ist in der Fourier Transformationsebene an der Rückseite des Objektivs angeordnet, sodaß das Bild des beleuchteten Schlitzes darauffällt und mit einer bestimmten Region des Modulators abgestimmt wird. Ist kein Objekt vorhanden, tritt das gesamte durch das Mikroskop hindurchtretende Licht durch die Abstimmregion. Auf beiden Seiten dieser spezifischen Region befinden sich zwei Regionen unterschiedlicher Densität, bzw. optischer Durchlässigkeit, sodaß das durch den Modulator weitergegebene Licht auf der einen Seite des Bildes des Schlitzes eine viel größere Intensität hat als auf der anderen Seite des Bildes des Schlitzes. Licht, welches durch diesen neuartigen Modulator hindurchtritt, wird in der Bildebene des Mikroskops verteilt, interferiert selektiv und macht Phasengradienten sichtbar. Die relative Helligkeit des Gradienten gegenüber der Hintergrundintensität ist das Verhältnis der Distanz, in der das Bild des Schlitzes gegenüber der Breite der abgestimmten Region des Modulators verschoben ist.

Die Erfindung wird nun anhand der Zeichnungen näher erläutert, wobei Fig. 1 ein Diagramm einer Ausführungsform der optischen Elemente in schematischer Darstellung entlang der optischen Achse des Mikroskops ist. Fig. 1A bis 1B sind schematische Diagramme optischer Bestandteile gemäß Fig. 1 im Grundriß. Fig. 2 zeigt einen diagrammatischen Grundriß des optischen Schlitzes unterhalb des Kondensors. Fig. 2A zeigt einen diagrammatischen Grundriß des Modulators in der Fourier Transformationsebene an der Rückseite des Objektivs. Fig. 3 veranschaulicht schematisch die Durchführung

und die Prinzipien der Erfindung. Fig. 4 ist ein Diagramm zur Veranschaulichung der relativen Lichtdurchlässigkeit eines erfindungsgemäß verwendeten Modulators. Fig. 5 zeigt ein trapezförmiges Objekt, welches betrachtet wird, sowie eine diagrammatische Darstellung seines Bildes durch das Mikroskop gesehen. Fig. 6 ist eine Darstellung ähnlich Fig. 5, zeigt jedoch ein Objekt, welches in der Betrachtung aus bogenförmigen Teilen bestehend erscheint. Fig. 7 ist ein schematisches Diagramm einer anderen Ausführungsform der Erfindung zur Betrachtung lichtundurchlässiger Objekte durch Reflektion.

Bezugnehmend auf die Zeichnungen, in denen gleiche Bezugszeichen gleiche Teile bezeichnen, werden einige konventionelle Bestandteile des herkömmlichen Verbundmikroskops verwendet, um das erfindungsgemäße Kontrastmodulationsmikroskop zu erhalten. Diese konventionellen Bestandteile umfassen eine Beleuchtungslampe 1, eine Konzentrations- und Fokussierungslinse 2 zur Beleuchtung von der Lampe 1 aus, eine Kondensorlinse 5, einen Objektträger 6, das Objektiv 7, die wirkliche Bildebene 9 und das Okular 10. Das Auge des Beobachters ist mit 11 bezeichnet.

Die erfindungsgemäßen Teile, welche zusammen mit den vorhergehenden Teilen verwendet werden, um das erfindungsgemäße Kontrastmodulationsmikroskop zu erhalten, umfassen einen Öffnungsschlitz 3 und eine optisch plane Glasplatte oder ein Prisma 4, welche beide zwischen der Linse 2 und der Kondensorlinse 5 angeordnet sind. Ein äußerst wichtiger Bestandteil ist der Modulator 8 in der Fourier Transformationsebene, welche durch das Bild des Schlitzes gebildet wird. Der Modulator kann aus Photofilm bestehen.

Licht von einer Lampe fällt auf eine Öffnung, beispielsweise einen Schlitz 3. Das Bild des Schlitzes wird sowohl durch den Kondensor als auch durch das Objektiv in einen Fokus gebracht, wodurch die Fourier Transformationsebene gebildet wird, in welcher der Modulator 8 angeordnet ist.

Um den erfindungsgemäßen Vorgang zu veranschaulichen, sind die in allen der Lichtquellenöffnung konjugierten Ebenen hergestellten Bilder auf der linken Seite im Grundriß dargestellt. Eine Ansicht des Objektes und seiner Bilder, welche in den darauffolgenden konjugierten Ebenen erzeugt werden, sind auf der rechten Seite dargestellt. Die Öffnung 3 gibt einen Lichtstrahl durch die Verschiebungssteuerungseinrichtung, die optisch plane Glasplatte oder das Prisma 4, weiter, welche durch die Kondensorlinse 5 erweitert wird, um das gesamte Feld des Mikroskops zu umfassen, in welchem das Objekt in der Objektebene 6 liegt. Der Strahl geht durch das Objektiv 7, welches das Bild des Schlitzes 13 in der Fourier Transformations-ebene 8 an der Rückseite des Objektivs fokussiert. Das Bild des Schlitzes wird auf dem Modulator 8 dieser Ebene genau registriert, sodaß bei Nichtvorhandensein eines Objektes das gesamte Licht vom Schlitz durch die zentrale Abstimmregion des Modulators hindurchtritt. Das Objekt 15 in der Objektebene 6 wird durch das Objektiv abgebildet und erzeugt ein wirkliches Bild 16 in der Bildebene 9 unmittelbar vor dem Okular 10. Das vergrößerte Bild fällt auf die Netzhaut des Auges 11, oder, wenn es photographisch aufgezeichnet wird, auf den Film einer Kamera. Die optisch plane Glasplatte 4 kann senkrecht zur optischen Achse gedreht oder gekippt werden. Diese Bewegung verschiebt das Bild der Öffnung in Bezug auf die Abstimmregion 19 auf dem Modulator 8 und bietet so eine Kontrolle über das Ausmaß der Kontrastmodulation.

Im wesentlichen umfaßt die Erfindung das Einsetzen einer Öffnung 3, deren Anordnung im optischen Weg des Mikroskops abgewandelt werden kann. Diese Öffnung, bzw. dieser Schlitz 3 kann die verschiedensten Formen haben; zur Erklärung der Prinzipien des Vorganges wird, wie in Fig. 2 zu sehen ist, ein rechteckiger Schlitz 18 dargestellt. Durch diesen Schlitz hindurchtretendes Licht passiert das Objekt 15 bei 6, wo es in der Fourier Transformationsebene auf der Rückseite des Objektivs fokussiert wird, wo der Modulator 8, ein wichtiges Element der Erfindung angeordnet ist. Dieser Modulator 8 ist in Fig. 2A dargestellt. Nicht abgelenkte Lichtstrahlen, welche vom Objekt nicht beeinflußt wurden, fallen auf den mittleren Teil des Modulators, 19, eine Region, welche einen Teil des

hindurchtretenden Lichtes absorbiert und den Rest durchläßt, damit es eine Hintergrundbeleuchtung bildet und zum Bild des mikroskopischen Objektes beiträgt. Die Steuerungseinrichtung 4 für die Strahlenverschiebung, ein wesentlicher Teil der Erfindung, kontrolliert das Registrieren des Bildes der Öffnung auf der mittleren Region 19 des Modulators 8. Aus Gründen der Vereinfachung hat jede Region des Modulators 8 eine einheitliche Durchlässigkeit, sie kann jedoch, wie aus Fig. 3 ersichtlich, mit unterschiedlicher, aber gesteuerter Durchlässigkeit hergestellt sein. In den Regionen 20, 21 zu beiden Seiten des mittleren Teiles des Modulators ist die Durchlässigkeit verschieden von jener des mittleren Teiles 19. Die Region 20 hat eine viel größere Durchlässigkeit als die Region 19, während die Region 21 eine geringere Durchlässigkeit aufweist als die Region 19. Ein Diagramm der Durchlässigkeit über den Durchmesser des Modulators veranschaulicht eine der vielen Möglichkeiten mit ausgewählter Durchlässigkeit (Fig. 4).

Wenn ein Objekt mit Phasengradienten sich in der Objektebene 6 befindet, wird Licht aus der mittleren Region 19 heraus gebrochen. Phasengradienten entstehen durch Unterschiede im Brechungsindex und in der Dicke. Angenommen das Objekt ist eine durchsichtige flache Scheibe, wie z.B. eine lebende Zelle. Die Zelle unterscheidet sich hinsichtlich Brechungsindex vom sie umgebenden Medium. Der Rand kommt der Form nach einem Prisma nahe. Durch den Boden der Zelle eintretendes Licht wird gegen die Grundfläche des Prismas hin abgelenkt und verschiebt das Bild des Schlitzes in der Fourier Ebene auf eine Seite. Auf ähnliche Weise begegnet von der anderen Seite der Zelle eintretendes Licht annähernd einem Prisma, welches Licht auf die gleiche Weise nach der anderen Seite hin bricht. Ein Gradient, bzw. eine Neigung kann als winziges Prisma beobachtet werden. Das Ergebnis aller dieser Brechungen ist eine Ablenkung des Lichtes von der mittleren Region, entweder zur optisch weniger dichten Seite des Modulators oder zur optisch dichteren Seite des Modulators. Bei der Erzeugung des wirklichen Bildes sammelt die Optik des Mikroskops Licht aus allen Regionen des Modulators, wobei die sich ergebende

Interferenz den Kontrast im beobachteten Bild herstellt. Licht von Brechungsindexgradienten, welches in einer Richtung abgelenkt wurde, wurde mit größerer Intensität durchgelassen als Licht von Brechungsindexgradienten, welches in der anderen Richtung abgelenkt wurde. Wenn sich derartige Strahlen beim Bild treffen, heben sie einander nicht auf. Es ergibt sich also ein sichtbares Bild für Phasenobjekte.

Die Neuheit der vorliegenden Erfindung besteht darin, daß die Fourier Transformationsebene nicht nur die räumlichen Frequenzen des Objektes verteilt, sondern auch die maximale Energie für jeden Punkt auf dem Gradienten eines Objektes.

Ein idealisiertes Phasenobjekt ist in Fig. 3 dargestellt. Die Phase des Strahles 1 und 2 kann durch $e^{-i\delta}$ ausgedrückt werden, wobei δ der Phasenunterschied gegenüber einer Welle $5e^{-ik_0 z}$ ist, welche nicht durch das Objekt hindurchtritt. Die Phase des Strahles 3 und 4 kann durch $e^{-i\phi x}$ ausgedrückt werden.

Da e^{-ikz_3} Strahl 3 und e^{-ikz_4} Strahl 4 ist, wobei $K = (N_0 - N_M)K_A$, N_0 der Brechungsindex des Phasenobjektes und N_M der Brechungsindex des äußeren Mediums ist, ist die Neigung der Ränder des Objektes $\tan \alpha \approx \frac{dz}{dx}$ und da sich Δx Null nähert, nähert sich $\tan \alpha \approx \frac{dz}{dx}$, der Gradient für diese Darstellung ist bezogen auf $z \tan \alpha$, daher $\phi = K \tan \alpha$. Wenn man an der Fourier Transformationsebene nur eine seitliche Dimension betrachtet, nähert sich die Amplitude $U(\theta)$ einem Fourier Integral

$$U(\theta) = \int_{-D/2}^{+D/2} e^{-i\phi x} e^{-i\theta x} dx$$

Ist d die Dimension des Phasenobjektes, sodaß $D = \frac{2\pi\phi}{\lambda}$ und ist θ die Winkeldimension auf der Fourier Ebene, so ergibt sich für die Region A bis B folgende Lösung:

$$U(\theta) \approx \frac{D \sin \left[\frac{D}{2} (\theta - \phi) \right]}{\left[\frac{D}{2} (\theta - \phi) \right]}$$

Für die Neigung C nach D gilt:

$$L(\theta) \approx \frac{D \sin [\frac{1}{2} (\theta + \phi)]}{[\frac{1}{2} (\theta + \phi)]}$$

Maximale Energie tritt in der Fourier Transformationsebene auf, wenn $\theta \pm \phi = 0$, $\theta = \pm \phi$, daher Nullordnung (maximale Amplitude kann nicht bei $\theta = 0$ auftreten oder im Zentrum des Bildes der Lichtquelle, wenn ein Phasengradient vorhanden ist. θ ist direkt proportional dem Phasengradienten vom Zentrum und verteilt daher die maximale Energie der Quelle vom Zentrum weg. Diese Energie kann von einer Übertragungsfunktion der Fourier Ebene in der Form eines Modulators selektiv absorbiert werden. Die Modulatorregionen (Fig. 2A) bestehen aus einem schmalen mittleren Streifen 19 und aus Seitenregionen 20, 21. Die Dimensionen in der Fourier Transformationsebene sind die dichteste Region des Modulators GH, 20, die mittlere Region, HK, 19 und die weniger dichte Region KL 21, wobei H und K $\pm \theta \omega$ entsprechen, G und L, die breiteste Dimension des Modulators entspricht $\pm \theta_c$, dem Winkel, welcher die Grenzfrequenz der Übertragungsfunktion des optischen Systems darstellt. In Fig. 4 wird die Übertragungsfunktion T so ausgewählt (eine von vielen Möglichkeiten), daß

$$T(\theta \omega \text{ to } \theta_c) \gg T(\pm \theta \omega) > T(-\theta \omega \text{ to } -\theta_c)$$

Die Intensitätsschwankung für das Objekt gemäß Fig. 3 ist in Fig. 5 dargestellt und für ein Objekt mit abgerundeten Kanten ist sie in Fig. 6 abgebildet. Die Schwankungen der Bildintensität im oberen Teil von Fig. 5 und 6 stellen eine Kontrastmodulation von Phasengradienten dar.

Die Empfindlichkeit dieses Verfahrens, Phasenobjekte sichtbar zu machen, hängt ab von der Breite des Schlitzes, von den Charakteristiken des Durchlässigkeitsverhältnisses der drei Regionen des Modulators.

Die relative Durchlässigkeit der verschiedenen Regionen des Modulators kann so ausgewählt werden, daß sich ein maximaler Kontrast ergibt. Licht, welches durch die mittlere Region des Modulators weitergegeben wird, wird zur Hintergrundbeleuchtung im Bild. Ein dunkelgrauer Hintergrund bietet

den maximalen Kontrast für beleuchtete Brechungsindexgradienten. Zwischen den Regionen des Modulators zu beiden Seiten der mittleren Region muß ein Intensitätsunterschied bestehen. Der mittlere Schlitz wird so gewählt, daß er eine ziemlich geringe Durchlässigkeit hat und so einen relativ dunklen grauen Hintergrund schafft. Die Region 21 hat etwa halb soviel Durchlässigkeit wie die mittlere Region; die Durchlässigkeit der anderen Region 20 wird mit annähernd 100% gewählt. Das Verhältnis zwischen der Durchlässigkeit der Regionen 20, 21 ist das Maß der möglichen Kontrastmodulation. In dem Maße, in dem sich das Verhältnis vergrößert, nimmt der Kontrast zwischen zwei Seiten kleiner Objekte zu. Ein weiterer Vorteil dieser Wahl von Durchlässigkeiten für die Regionen 20, 21 liegt darin, daß man ein dreidimensionales Bild beobachten kann. Ein weiteres Resultat dieser Wahl von Modulatordurchlässigkeiten besteht darin, daß die axiale Interferenzenebene in der Bildebene außerordentlich schmal ist, sodaß das sogenannte optische Aufteilen auftreten kann. In vielerlei Hinsicht ist das Erscheinen des Bildes in dieser Art von Mikroskop, dem Kontrastmodulationsmikroskop, ähnlich der Erscheinung, welche in einem Differenzinterferenz - Kontrastmikroskop erzeugt wird.

Haben die drei oder mehr Regionen des Modulators verschiedene Farben, so kann zusätzliche Information aus dem Bild über das Objekt erhalten werden. Blau wird für die mittlere Region 19 vorgeschlagen, wodurch ein blauer Hintergrund für jene Teile des Bildes geschaffen wird, welche keine Phasengradienten darstellen. Das Auge ist der blauen Farbe gegenüber am wenigsten empfindlich. Die anderen Farben heben sich stärker ab und ermöglichen eine größere Identifizierung von Gradienten. Die Farbenwahl für die anderen Regionen kann recht verschieden sein; in dieser Beschreibung wurde für die Region 21 Rot und für die Region 20 Gelb gewählt. In der Bildebene sind ähnliche Brechungsindexgradienten ähnlich gefärbt. Wird die optisch plane Glasplatte 4 senkrecht zur optischen Achse gekippt, so wird das Bild der Öffnung 3 auf die eine oder andere Seite der mittleren Abstimmregion 19 des Modulators 8 verschoben. Diese Verschiebung des Lichtstrahles verändert die Hintergrundbeleuchtung, welche nun eine Mischung der Strahlen

aus der mittleren Region und der Strahlen aus der Region ist, in welche das Bild verschoben wurde. Das Ausmaß der Kontrastmodulation wurde um Neigungen in der Verschieberichtung verringert und um Neigungen in der anderen Richtung vergrößert. Das Auge kann ähnliche Gradienten in Farbe leichter unterscheiden als mit einem Modulator neutraler Densität, daher hebt Farbe leichter ähnliche Strukturen hervor. Ein bedeutender Vorteil dieses Kontrastmodulationsmikroskops besteht darin, daß die gefärbten Abschnitte des Modulators, wie bereits erwähnt, mit verschiedener Lichtdurchlässigkeit gewählt werden können, u.zw. mittels eines Modulators neutraler Densität. Es läßt sich ein dreidimensionaler Effekt beobachten, da der Modulator neutraler Densität mit einem färbigen Bild kombiniert ist. In diesem neuartigen Mikroskop, dem Kontrastmodulationsmikroskop, können Farrentrennung und Übertragung neutraler Densität unabhängig voneinander und unabhängig von der Einstellung der Optik gewählt und der Art des zu beobachtenden Objektes angepaßt werden, ein Merkmal, das bei Interferenz- oder Phasenkontrastmikroskopen nicht vorhanden ist.

Gewünschtenfalls können die drei verschiedenen Regionen des Modulators so beschaffen sein, daß sie verschiedene Phasenänderungen ergeben, in gewissem Sinne ähnlich wie die Phasenplatte in einem Phasenkontrastmikroskop, aber mit deutlichem Unterschied in der Arbeitsweise. Das bereits beschriebene Prinzip der unterschiedlichen Durchlässigkeit für die drei Regionen des Modulators erzeugt ein Bild ähnlich dem Phasenkontrast, jedoch ohne Lichthof. Tatsächlich zeigt die Kontrastmodulationstechnik, daß die Erzeugung eines Lichthofes auf Phasengradienten zurückzuführen ist, welche im Kontrastmodulationsmikroskop deutlich erkennbar sind. Im Phasenkontrastmikroskop verursachen die Phasengradienten einen Lichthof und verdunkeln Information.

Das Kontrastmodulationsprinzip kann, wie in Fig. 7 gezeigt, auf ein Mikroskopierversystem für reflektiertes Licht angewendet werden. Die dabei verwendete Optik ist die gleiche wie für ein Verbundmikroskop unter Verwendung von Episkop-

Beleuchtung. Das Licht aus der Lichtquelle 22 wird durch eine Linse 23 gesammelt, auf den Schlitz 24 fokussiert und geht durch die Strahlenverschiebungssteuerung 26 hindurch. Der Kondensor 25 wirft das Licht auf einen Strahlenteiler 27 und lenkt einen Strahl durch das Objektiv 28 auf ein undurchsichtiges Objekt 29. Das vom undurchsichtigen Objekt reflektierte Licht tritt durch das Objektiv hindurch auf die Fourier Transformationsebene 30, wo der Modulator angeordnet ist. Die Lichtstrahlen passieren den Modulator und treffen auf die Bildebene 31 auf, welche durch das Okular 32 vergrößert und im Auge 33 abgebildet wird. Dieselbe Bandbreite an Modifikationen besteht für das Mikroskop für reflektiertes Licht wie für das Mikroskop für hindurchgelassenes Licht.

P a t e n t a n s p r ü c h e :

1. Kontrastmodulationsmikroskop gekennzeichnet durch eine Vorrichtung, durch die ein Objekt in Objektposition gehalten wird, eine Lichtquelle zur Beleuchtung des Objektes, eine Kondensoreinrichtung zum Konzentrieren des Lichtstrahles auf die Objektposition, ein auf die Objektposition fokussiertes Objektiv zum Auffangen des Lichtstrahles nach Verlassen des Objektes, eine Vorrichtung zum Betrachten des Bildes, eine Öffnung, welche unter der Kondensoreinrichtung in einer der Fourier Transformationsebene konjugierten Ebene auf der Rückseite des Objektivs angeordnet ist und einen Modulator mit Regionen von unterschiedlicher Densität, welcher Modulator in der Fourier Transformationsebene hinter dem Objektiv angeordnet ist, wodurch beim Betrachten eines transparenten Objektes mit Phasengradienten das Bild sichtbare Kontrasteffekte zeigt, welche den Abschnitten der Phasengradienten des Objektes entsprechen, welche sich aus durch den Modulator durchgeführten Modifikationen der Amplitude der durch ihn übertragenen Lichtstrahlen ergeben.
2. Mikroskop nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch eine Öffnung, welche unter dem Kondensor, aber nicht notwendigerweise am Brennpunkt des Kondensors angeordnet ist, wobei der Modulator in der der Öffnung konjugierten Ebene zwischen Objektiv und Okular angeordnet ist.
3. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Modulator mindestens drei Regionen unterschiedlicher Densität aufweist, wobei eine der drei Regionen mit dem Bild an der Lichtquellenöffnung zusammenfällt.
4. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Modulator Regionen von mindestens drei verschiedenen Farben aufweist.

5. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Modulator Regionen mit sowohl Densitätsunterschieden als auch Farbunterschieden aufweist.
6. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Größe und Form der Öffnung verstellbar sind.
7. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Größe und Form des Modulators verstellbar sind.
8. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Modulator mindestens drei Regionen aus polarisierendem Material umfaßt, wobei jede Region unterschiedlich orientiert ist, und daß der Modulator eine verstellbare Analysiereinrichtung zum Regulieren der Durchlässigkeit auf die Bildebene aufweist.
9. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in den verschiedenen Regionen des Modulators phasenverändernde Materialien verwendet werden, um die Interferenz in der Bildebene ohne Lichthof zu ermöglichen.
10. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchlässigkeit der einen Region des Modulators geringer ist als die der mittleren Region und daß die andere Seite des Modulators eine viel größere Durchlässigkeit hat als die mittlere Region, wodurch die Amplitudenübertragung moduliert wird.
11. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Öffnung mit einem Farbfilter zum Mischen und Trennen der Farben versehen ist.
12. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Öffnung einen Schlitz aufweist, welcher variiert werden kann, um die Empfindlichkeit gegenüber den Brechungsindexgradienten zu steuern.

13. Mikroskop nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Modulator verschiedene Regionen mit unterschiedlichem Durchlässigkeitsgrad aufweist, um die Empfindlichkeit gegenüber Brechungsindexgradienten zu steuern.
14. Mikroskop nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchlässigkeit der mittleren Region variiert wird, um die Intensität des Hintergrundes des Bildes zu steuern.
15. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Öffnung gedreht werden kann, ebenso wie der Modulator gedreht und mit der Öffnung übereingestimmt werden kann, sodaß die Richtung des Brechungsindexgradienten gefunden werden kann.
16. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Position der Öffnung entlang der optischen Achse variiert werden kann, um eine Fourier Transformationsebene an einem ausgewählten Ort zu bilden, wobei dieser Ort nicht an der hinteren Fokalebene des Objektivs sein muß.
17. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Modulator eine hohe Amplitudenübertragung für positive Gradienten im Objekt und eine geringe Amplitudenübertragung für negative Gradienten des Objektes hat, wodurch sich ein dreidimensionales Bild von Phasenobjekten ergibt.
18. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Durchlässigkeit in einer Region des Modulators sehr unterschiedlich ist vom Rest des Modulators und daß der Rest des Modulators eine gleichmäßige Durchlässigkeit hat, sodaß die Energie aus einem kleinen Bereich an Gradienten zur Bildebene weitergegeben wird, sodaß alle Teile des Objektes mit einem ausgewählten Gradienten identifiziert werden.

19. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Modulator eine über den Durchmesser linear ansteigende Durchlässigkeit hat, wodurch eine Vielzahl von Durchlässigkeitsregionen und damit ein Kontrastmodulationsbild geschaffen wird, ohne daß eine genaue Ausrichtung des Bildes der Öffnung auf irgendeine Region des Modulators nötig wäre.
20. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es mit einer speziell konstruierten Kondensorlinse zur Schaffung eines reduzierten Bildes der Öffnung in der Fourier Transformationsebene ausgestattet ist, wodurch ein Kontrastmodulationsmikroskop mit hoher Empfindlichkeit und einer großen Lichtquellenöffnung geschaffen wird.
21. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die mittlere Region des Modulators verglichen mit den übrigen Regionen eine hohe Durchlässigkeit hat, wodurch im Bild ein heller Hintergrund geschaffen wird, was als positive Kontrastmodulation bezeichnet werden kann.
22. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß der Modulator unter dem Kondensor und die Öffnung in der Fourier Transformationsebene hinter dem Objektiv angeordnet sind.
23. Mikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß optisch planes Glas schwenk- und kippbar zwischen der Öffnung und dem Kondensor angeordnet ist, um eine variable Kontrastmodulation zu ermöglichen, indem das Ausmaß der Registrierung des Bildes der Öffnung auf der entsprechenden Region des Modulators in der konjugierten Fourier Ebene gesteuert wird.
24. Mikroskop gekennzeichnet durch eine Vorrichtung zum Halten eines Objektes in Objektposition, eine Lichtstrahlenquelle zur Beleuchtung des Objektes, eine Kondensorlinse zum

Konzentrieren der Lichtstrahlen, ein auf die Objektposition fokussiertes Objektiv zum Auffangen der Lichtstrahlen, nachdem sie das Objekt verlassen haben, eine Einrichtung zum Anzeigen des Bildes, eine in einer der Fourier Transformationsebene konjugierten Ebene angeordnete Beleuchtungsquelle und eine Einrichtung mit Regionen unterschiedlicher Densität, welche in der Fourier Transformationsebene angeordnet ist und den Teilen der Phasengradienten des Objektes entspricht, welche sich durch Modifikationen mittels dieser Einrichtung der Lichtstrahlenamplitude relativ über eine gegebene auf dieser Einrichtung angeordnete Region, sowohl in größerer als auch geringerer Intensität ergeben, wodurch bei Betrachten eines transparenten Objektes mit Phasengradienten die Bildanzeigeeinrichtung das Objekt mit sichtbaren Kontrasteffekten zeigt.

25. Optisches System, insbesondere zur Betrachtung eines Phasenobjektes, gekennzeichnet durch
- a) eine Beleuchtungseinrichtung für das Phasenobjekt,
 - b) eine Linsenordnung zum Fokussieren der durch das Objekt in einer vorherbestimmten Ebene reflektierten Beleuchtung,
 - c) eine zwischen der Beleuchtungseinrichtung für das Objekt und der vorherbestimmten Ebene angeordnete erste Öffnung, wobei diese Öffnung in einer zweiten Ebene konjugierten Ebene angeordnet ist, welche zweite Ebene dadurch gekennzeichnet ist, daß räumliche Frequenzen des Objektes und relativ maximale Energie für jeden Punkt auf dem Gradienten des Objektes verteilt werden,
 - d) eine zweite an der zweiten Ebene angeordnete Einrichtung für selektives Absorbieren von Energie entsprechend dem Gradienten des Objektes, sodaß der Betrachter das Objekt mit sichtbaren Kontrasteffekten betrachten kann, wobei diese zweite Einrichtung Energie um eine mittlere Region sowohl in größerer als auch geringerer Intensität absorbiert.

26. Mikroskop umfassend eine Vorrichtung zum Halten eines Objektes in einer Objektposition, eine Lichtquelle zur Beleuchtung des Objektes, einen Kondensor zum Konzentrieren des Lichtstrahles, ein auf die Objektposition fokussiertes Objektiv zum Auffangen des Lichtstrahles nach Verlassen des Objektes, und eine Bildebene zum Betrachten und Anzeigen des Objektes, dadurch gekennzeichnet, daß die Vorrichtung zum Anzeigen eines Phasenobjektes folgendes umfaßt:

- a) eine in einer vorherbestimmten Ebene angeordnete beliebige Öffnung, die so angeordnet ist, daß sie den Lichtstrahl unterbricht, wobei die Ebene eine zweite konjugierte Ebene definiert, in welcher sowohl die räumlichen Frequenzen des Objektes als auch die maximale Energie für jeden Punkt auf dem Gradienten des Objektes verteilt werden, und
- b) eine in der konjugierten Ebene angeordnete Einrichtung zum Verteilen des in der Bildebene hindurchtretenden Lichtes, wobei diese Einrichtung Regionen mit unterschiedlicher Durchlässigkeit aufweist, welche Phasengradienten in sichtbare Kontrastinformation umwandeln kann, wodurch ein Phasenobjekt betrachtet oder angezeigt werden kann und wobei die Regionen mit unterschiedlicher Durchlässigkeit so beschaffen sind, daß mindestens zwei Regionen entsprechende Flächen umfassen, von denen eine jede im wesentlichen eine Hälfte der konjugierten Ebene ausmacht.

27. Bestandteil zur Verwendung beim Mikroskopieren und insbesondere geeignet zum Betrachten von Phasenobjekten, gekennzeichnet durch

- a) einen dünnen planaren Teil, welcher in einem Mikroskopiersystem in einer Fourier Transformationsebene angeordnet ist, wobei dieser Teil eine bestimmte Region aufweist, um welche herum noch mindestens zwei Regionen angeordnet sind, die sich in der optischen Densität sowohl voneinander als auch von der bestimmten Region unterscheiden, sodaß Licht, welches auf beiden Seiten der bestimmten Region

durchgelassen wird, sich an Intensität wesentlich vom Licht der bestimmten Region und der anderen Regionen untereinander unterscheidet.

28. Bestandteil nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, daß die bestimmte Region des planaren Teiles ein vom oberen Rand zum unteren Rand verlaufender mittlerer Streifen mit einer gewissen Intensität ist, wobei an der rechten und der linken Seite dieser Region je ein Streifen verläuft, welche Streifen eine Densität aufweisen, die sich sowohl von der Densität des anderen Seitenstreifens als auch von der des mittleren Streifens unterscheidet.
29. Bestandteil zur Verwendung beim Mikroskopieren, insbesondere geeignet zum Einsetzen in den optischen Weg eines Verbundmikroskops, gekennzeichnet durch einen relativ dünnen, planaren Teil aus lichtdurchlässigem Material, welcher mindestens zwei Regionen mit unterschiedlicher Durchlässigkeit aufweist, wobei jede Region auf dem planaren Teil so angeordnet ist, daß sie im wesentlichen eine Hälfte der Fourier Ebene im optischen Weg des Verbundmikroskops einnimmt.
30. Bestandteil nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß der dünne planare Teil auf seiner Oberfläche eine mittlere Region mit mittelstarker Durchlässigkeit, eine seitliche Region mit höherer Durchlässigkeit und eine weitere Seitenregion mit geringerer Durchlässigkeit aufweist.
31. Optisches System, insbesondere geeignet für die Verwendung beim Mikroskopieren und zum Betrachten von Phasenobjekten mithilfe eines Lichtstrahles, gekennzeichnet durch
 - a) eine Fourier Ebene, welche in einem bestimmten optischen Weg nach dem Objekt angeordnet ist,

- b) eine Regionen unterschiedlicher Densität aufweisende Einrichtung, welche in der Fourier Transformationsebene angeordnet ist und den Teilen der Phasengradienten des Objektes entspricht, welche sich durch mithilfe dieser Einrichtung durchgeführte Modifikationen der Amplitude des Lichtstrahles relativ um eine gegebene Region in sowohl größerer als auch geringerer Intensität ergeben, und
- c) eine Beleuchtungsquelle zur Beleuchtung des Objektes, welche in einer der Fourier Ebene konjugierten Ebene angeordnet ist.

32. Verfahren zum Betrachten eines transparenten Objektes mit einem bestimmten Phasengradienten, dadurch gekennzeichnet, daß

- a) das Objekt mit einem Lichtstrahl beleuchtet wird,
- b) der vom Objekt kommende Lichtstrahl in einer bestimmten Ebene aufgefangen wird,
- c) der aufgefangene Lichtstrahl durch ein Medium mit Regionen unterschiedlicher Densität geleitet wird, um die Amplitude des aufgefangenen Lichtstrahles um eine bestimmte Region des Mediums, sowohl in größerer als auch in geringerer Intensität zu modifizieren, und daß
- d) der Strahl mit modifizierter Amplitude angezeigt wird, um eine Darstellung des Phasenobjektes zu erhalten.

20
Leerseite

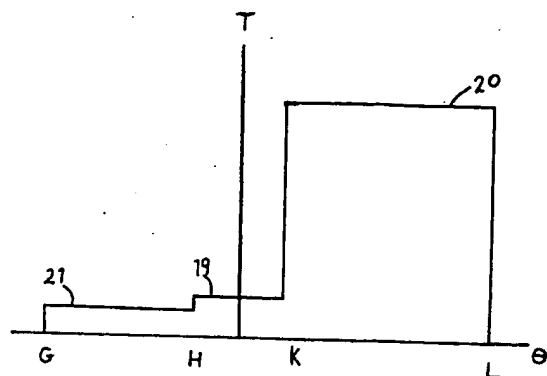


FIG. 4

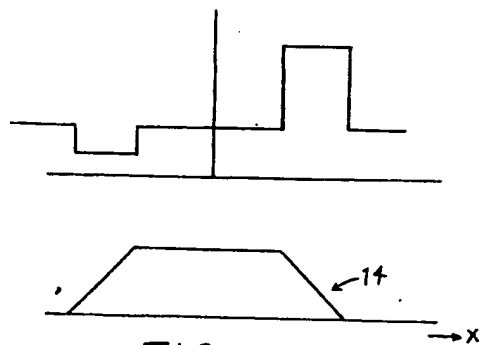


FIG. 5

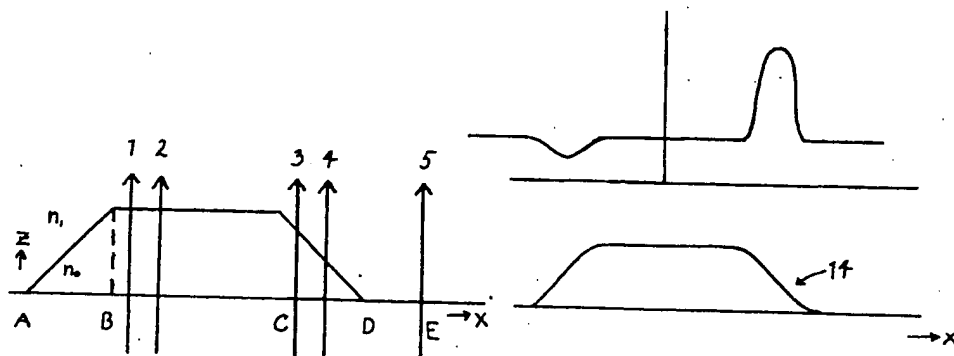


FIG. 3

FIG. 6

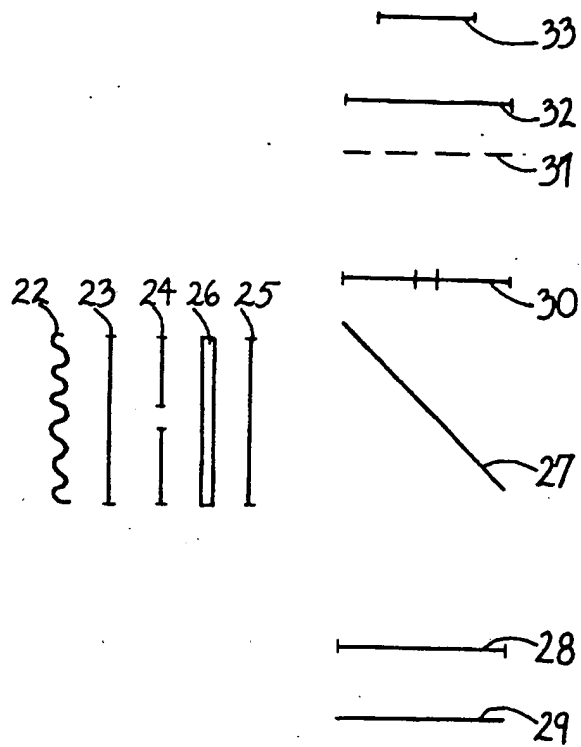


FIG. 7

X

FIG. 1

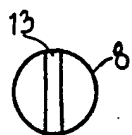
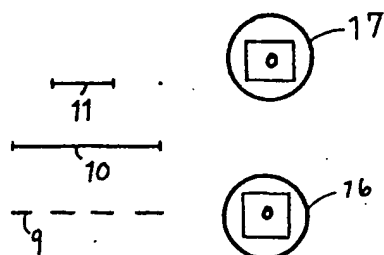


FIG. 1B

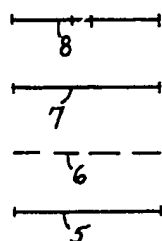


FIG. 1A

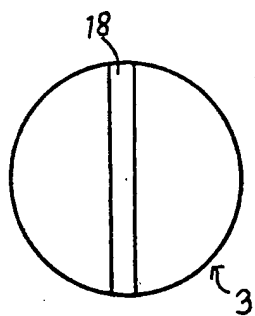
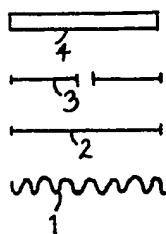


FIG. 2

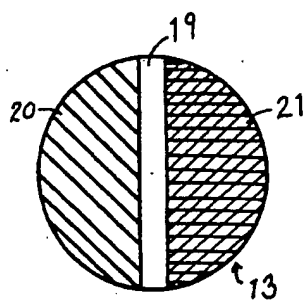


FIG. 2A

509851/0350